

CRESCIMENTO DE MUDAS DE *LEUCAENA LEUCOCEPHALA* INOCULADA COM *BRADYRHIZOBIUM* E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM NEOSSOLO LITÓLICO

MARÍLIA MALTA CAVALCANTE MENDES³

JULIANA SOUZA MARQUES³

MÁRCIA DO VALE BARRETO FIGUEIREDO⁴

GERALDO MAJELLA BEZERRA LOPES^{1,2,4}

ANTONIO RAIMUNDO DE SOUSA⁴

SÔNIA FORMIGA DE ALBUQUERQUE⁴

¹Academia Brasileira de Ciência Agronômica, Recife, Pernambuco.

²Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, Recife, Pernambuco.

³Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Recife, Pernambuco.

⁴Instituto Agronômico de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

Autor para correspondência: majella@elogica.com.br.

Resumo: A resposta de plantas à inoculação com espécies recomendadas de rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pode ser influenciada pela adaptabilidade desses microrganismos às condições de solo regionais, assim como pela sua capacidade de competir com os microrganismos nativos. O objetivo com este trabalho foi avaliar a eficiência de *Bradyrhizobium* (BR 814) e FMAs (*Glomus clarum* e *Gigaspora margarita*) em promover o crescimento de mudas de leucena (*Leucaena leucocephala*) cultivadas em Neossolo Litólico, não esterilizado, proveniente do Assentamento Olho D'Água do Félix, município de Caruaru, Semiárido de Pernambuco. Aos 150 dias os resultados não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos com e sem inoculação, indicando que os microrganismos testados não foram eficientes na promoção do crescimento de leucena sob as condições de solo locais.

Termos para indexação: BR 814, *Gigaspora margarita*, *Glomus clarum*.

GROWTH OF SEEDLINGS OF *Leucaena leucocephala* INOCULATED WITH *Bradyrhizobium* AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN LITHOLIC NEOSOLS

Abstract: Plant response to inoculation with recommended species of rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) may be influenced by the adaptability

of these microorganisms to regional soil conditions, as well as their ability to compete with the *native microorganisms*. The evaluation of the efficiency of Bradyrhizobium (BR 814) and AMF (Glomus clarum and Gigaspora margarita) to promote the growth of of Leucaena leucocephala seedlings inoculated with Bradyrhizobium (BR 814) and AMF (Glomus clarum and Gigaspora margarita) in non-sterilized soil from the Olho D'água do Félix Settlement, Caruaru, Semi-arid of Pernambuco was the aim with this study. At 150 days the results showed no significant difference between treatments with and without inoculation, indicating that micro-organisms tested were not effective in promoting growth of leucaena under local soil conditions.

Index terms: BR 814, Gigaspora margarita, Glomus clarum.

INTRODUÇÃO

Originária da América Central, e atualmente difundida em diversos países, a leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.) é uma leguminosa arbórea de múltiplo uso, sendo utilizada principalmente como fonte de forragem, madeira, carvão vegetal e adubo verde (FORMENTINI, 2008). No tocante à fonte de alimentação para ruminantes, a espécie apresenta alto valor nutritivo com teores de minerais e aminoácidos comparáveis ao da alfafa (*Medicago sativa*), sendo também excelente fonte de Betacaroteno (FRANCO; SOUTO, 1986). Possui teores de proteína bruta em torno de 20% considerados satisfatórios para atenderem as exigências dos ruminantes em pastejo (REIS, 2001). Apresenta uma produção de 5 a 25 toneladas de matéria seca/ha/ano (FORMENTINI, 2008) e boa capacidade de rebrota após sucessivos cortes (DRUMOND; RIBASKI, 2010).

A tolerância à seca, o crescimento rápido e a alta capacidade de rebrota conferem à leucena potencial para o incremento da produção de forragem em áreas de agricultura familiar no Semiárido nordestino.

A leucena forma simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio e associação com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (DRUMOND; RIBASKI, 2010). Tais interações permitem à planta absorver com maior facilidade nutrientes que são utilizados para o seu crescimento. Foi verificado um potencial de fixação de 500 kg de nitrogênio/ha/ano (DRUMOND; RIBASKI, 2010; FORMENTINI, 2008). A associação com FMA permite à planta absorver com maior facilidade nutrientes minerais do solo, especialmente o fósforo (STÜRMER et al., 2009). A inoculação com esses

microrganismos além de promover o maior crescimento das plantas permite a redução da utilização de fertilizantes nitrogenados e fosfatados, inferindo redução dos custos de produção e menor contaminação do solo (FARIA; MACHADO; UCHÔAS, 2005).

A capacidade de estirpes de rizóbio e FMAs, recomendados para outras regiões, em se adaptar às condições de solo regionais, assim como de competir com os microrganismos nativos pode influenciar a resposta de plantas à inoculação (CHU; YARED; MAKI, 2004; FERNANDES JÚNIOR; REIS, 2008).

O objetivo com este trabalho foi determinar a altura, o diâmetro do colo e a matéria seca de mudas de leucena inoculadas com *Bradyrhizobium* (BR 814) e FMA (*Glomus clarum* e *Gigaspora margarita*) em solo não esterilizado, proveniente do Assentamento Olho D'Água do Félix, Caruaru-PE. Buscou-se averiguar o potencial desses microrganismos para o incremento da produtividade de forragem dessa espécie, nas condições de solo locais¹.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) utilizando-se vasos com 8 kg de solo não esterilizado, coletado entre 0-20 cm de profundidade, proveniente do Assentamento Olho D'Água do Félix, município de Caruaru, Semiárido de Pernambuco². O solo, classificado como Neossolo Litólico, apresentava as seguintes características físico-químicas (Tabelas 1 e 2).

A estirpe de *Bradyrhizobium* utilizada foi a BR 814, proveniente do Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia (CNPAB), purificada no meio YEMA (agar, manitol e extrato de levedura) utilizando o indicador Vermelho Congo (VINCENT, 1970) e multiplicada em meio YEM (manitol – extrato de levedura). O caldo bacteriano contendo 10^8 ufc mL⁻¹ da bactéria foi misturado em 150 gramas de turfa neutralizada e autoclavada a 120° C sob pressão de 101 kPa.

¹A realização desse experimento surgiu por demanda de trabalho de pesquisa que o IPA vem realizando em áreas de assentamentos rurais, onde uma das finalidades é a de incrementar a produção de forragem, de forma ambientalmente compatível.

²Projeto de pesquisa-ação: Tecnologias silvipastoris e de inoculação de plantas para o incremento de renda e a conservação da Caatinga em áreas de assentamentos rurais no Semiárido pernambucano. Edital MCT/CNPq/MDA/SAF/Dater N° 033/2009.

Tabela 1. — Propriedades químicas do solo utilizado para o cultivo das mudas de leucena (*Leucaena leucocephala*), coletado no assentamento Olho D'água do Félix, Caruaru-PE.

P (mg/ dm ³)	pH (H ₂ O)	cmolc/dm ³						%			
		Ca	Mg	Na	K	Al	H	S	CTC	V	m
14	6,40	2,70	0,95	0,02	0,38	0,00	1,48	4,1	5,5	73	0

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo - IPA

Tabela 2. — Propriedades físicas do solo utilizado para o cultivo das mudas de leucena (*Leucaena leucocephala*), coletado no assentamento Olho D'água do Félix, Caruaru-PE.

Profund. (cm)	DENSIDADE (G/CM³)		Composição granulométrica (%)				Arg. Nat. (%)	Grau floc. (%)	Clas. text. (*)	UMIDADE (%)		Água disponível		
	Ds	DR	Areia grossa	Areia fina	Silte	Arg				Residual	0.33 Atm	15 Atm	%	mm/ cm
0 - 20	1,58	2,60	48	28	11	13	4	69	FA	1,20	6,72	3,21	3,51	0,55

Fonte: Laboratório de Física do Solo - IPA

Prof. = Profundidade; Arg. = Argila; Arg. Nat. = Argila natural; Grau foc. = Grau de floculação; Clas. Text. = Classe textural;

* FA = Franco Arenoso

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) utilizados foram *Glomus clarum* Nicol. & Schenck e *Gigaspora margarita* Becker & Hall, provenientes do CNPAB.

As sementes foram submetidas à quebra de dormência por imersão em ácido sulfúrico (95-97% P.A.) por 20 minutos, sendo em seguida lavadas sete vezes com água destilada. Para a inoculação com a estirpe de *Bradyrhizobium* as sementes foram misturadas em meio à base de turfa, homogeneizada com água destilada e açúcar (10%) e em seguida postas a secar em local arejado. Na inoculação com os FMAs aplicou-se cerca de 100 glomerosporos/vaso em forma de propágulo.

O delineamento foi em blocos ao acaso com quatro repetições de oito tratamentos: T_1 = Testemunha (microrganismos nativos); T_2 = BR 814; T_3 = *Glomus clarum*; T_4 = *Gigaspora margarita*; T_5 = BR 814 + *Glomus clarum*; T_6 = BR 814 + *Gigaspora margarita*; T_7 = *Glomus clarum* + *Gigaspora margarita*; T_8 = BR 814 + *Glomus clarum* + *Gigaspora margarita*.

As plantas foram cultivadas por um período de cinco meses e mensuradas mensalmente quanto à altura e ao diâmetro do colo. No quinto mês foi coletada a parte aérea e da raiz para determinação de matéria seca (MS). O material foi pesado e em seguida posto em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 65 °C, por um período de 72 horas. Após secagem, o material foi novamente pesado para determinação de produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR).

Os dados foram submetidos à análise estatística utilizando-se o programa ASSISTAT e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à altura (Tabela 3) e ao diâmetro do colo (Tabela 4), medidos durante 150 dias, assim como os resultados relacionados à matéria seca da parte aérea e da raiz (Tabela 5), não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos com e sem inoculação. A exceção foi para a altura da planta aos 90 dias, onde se verificou que as plantas inoculadas com *Bradyrhizobium* apresentaram os melhores resultados em relação à testemunha. Segundo Silva et al. (2009), o pico de nodulação para a leucena ocorre aos 80 dias, o que pode explicar os resultados obtidos nesse período

Tabela 3. — Altura de mudas de *Leucaena leucocephala* aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a semeadura, inoculadas com *Bradyrhizobium* e fungos micorrízicos arbusculares, em Neossolo Litólico não esterilizado.

TRATAMENTOS	Altura (cm)				
	30 Dias	60 Dias	90 Dias	120 Dias	150 Dias
Testemunha	7.2000 a	43.7500 a	83.1250 c	123.5000 a	146.1250 a
BR 814	8.3000 a	48.3750 a	108.0000 a	149.3750 a	169.7500 a
<i>G. clarum</i>	7.8750 a	51.8750 a	87.3750 bc	132.6250 a	154.5000 a
<i>G. margarita</i>	7.2500 a	46.7500 a	90.8750 bc	130.0000 a	154.5000 a
BR 814 + <i>G. clarum</i>	7.6250 a	48.2500 a	101.2500 ab	143.2500 a	161.8750 a
BR 814 + <i>G. margarita</i>	7.8250 a	57.2500 a	103.3750 ab	150.7500 a	172.6250 a
<i>G. clarum</i> + <i>G. margarita</i>	8.9250 a	58.6250 a	96.7500 abc	143.2500 a	171.3750 a
BR 814 + <i>G. clarum</i> + <i>G. margarita</i>	9.8750 a	50.0000 a	101.0000 ab	146.5000 a	172.7500 a
CV %	25.2129	18.3402	7.3489	8.2471	7.8747

Fonte: Trabalho de campo

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Tabela 4. — Diâmetro do colo de mudas de *Leucaena leucocephala* aos 60, 90, 120 e 150 dias após a semeadura, inoculadas com *Bradyrhizobium* e fungos micorrízicos arbusculares, em Neossolo Litólico não esterilizado.

TRATAMENTOS	Diâmetro do colo (mm)			
	60 Dias	90 Dias	120 Dias	150 Dias
Testemunha	3.7450 a	7.5000 a	10.1050 a	11.5950 a
BR 814	3.7050 a	7.5825 a	10.8075 a	12.0450 a
<i>G. clarum</i>	3.8400 a	7.8950 a	10.7000 a	11.9375 a
<i>G. margarita</i>	3.5000 a	7.6150 a	10.2625 a	11.5750 a
BR 814 + <i>G. clarum</i>	4.2000 a	7.7825 a	10.9450 a	12.1300 a
BR 814 + <i>G. margarita</i>	4.2000 a	7.7750 a	11.2575 a	12.4125 a
<i>G. clarum</i> + <i>G. margarita</i>	4.4475 a	7.8200 a	10.8375 a	12.0400 a
BR 814 + <i>G. clarum</i> + <i>G. margarita</i>	4.4075 a	8.0475 a	10.7950 a	12.0725 a
CV %	126.613	53.965	50.593	57.313

Fonte: Trabalho de campo.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 5. — Matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) de mudas de *Leucaena leucocephala* aos 150 dias após a semeadura, inoculadas com *Bradyrhizobium* e fungos micorrízicos arbusculares, em Neossolo Litólico não esterilizado.

TRATAMENTOS	Matéria Seca (g/planta)	
	Parte Aérea (MSPA)	Raiz (MSR)
Testemunha	32,50 a	20,00 a
BR 814	40,00 a	23,75 a
<i>Glomus clarum</i>	35,00 a	27,50 a
<i>Gigaspora margarita</i>	31,20 a	23,75 a
BR 814 + <i>G. clarum</i>	37,50 a	26,25 a
BR 814 + <i>G. margarita</i>	40,00 a	25,00 a
<i>G. clarum</i> + <i>G. margarita</i>	42,50 a	27,50 a
BR 814 + <i>G. clarum</i> + <i>G. margarita</i>	41,20 a	23,75 a
CV %	145.478	350.446

Fonte: Trabalho de campo

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

de avaliação.

No entanto, as plantas sem de inoculação apresentaram, nas demais épocas de avaliação resultados semelhantes àqueles das plantas inoculadas com *Bradyrhizobium* e FMAs.

A falta de respostas de plantas à inoculação com microrganismos, em condições de campo ou cultivadas em substrato não esterilizado, não é fato incomum de ocorrer. Experimentos de inoculação com diversas leguminosas, realizados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), em solos dos Tabuleiros Costeiros de Sergipe, utilizando estirpes de rizóbio recomendadas para outras regiões do País, demonstraram ausência de resposta das plantas quanto ao incremento no seu crescimento (BARRETO; FERNANDES, 1998; BARRETO; FERNANDES, 2001; FERNANDES, M.; FERNANDES, R.; HUNGRIA, 2003).

Os resultados obtidos com o presente estudo corroboram os alcançados com mudas de gliricídia (*Gliricidia sepium*), cultivadas sob as mesmas condições de solo procedente do Assentamento Olho D'água do Félix e inoculadas com a estirpe recomendada para essa espécie (BR 8801), assim como com os FMAs *Glomus clarum* e *Gigaspora margarita* (MENDES et al., 2011). Da mesma forma, com esse trabalho não se identificou diferença significativa entre os tratamentos com e sem inoculação.

A baixa adaptabilidade às condições de solo regionais e baixa competitividade com estirpes nativas são fatores comumente associados à ausência de respostas das plantas à inoculação com a estirpe recomendada (FERNANDES JÚNIOR; REIS, 2008). O fato de que o *Bradyrhizobium* e os FMAs testados não influenciaram no crescimento das mudas de leucena pode estar relacionado à baixa competitividade com relação às estirpes nativas ou à redução da atividade desses microrganismos nas condições de pH e teor de P do solo local.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio à pesquisa e concessão de bolsas; aos agricultores do Assentamento Olho D'Água do Félix, em Caruaru (PE).

REFERÊNCIAS

- BARRETO, A. C.; FERNANDES, M. F. **Recomendação de leguminosas para adubação verde em solos dos tabuleiros costeiros**. Aracaju: Embrapa-CPACT, 1998.
- BARRETO, A. C.; FERNANDES, M. F. **Recomendações técnicas para o uso da adubação verde em solos de tabuleiros costeiros**. Aracaju: Embrapa, 2001.

CHU, E. Y.; YARED, J. A. G.; MAKI, H. J. I. O. Efeitos da inoculação micorrízica e da adubação fosfatada em mudas de *Vochysia maxima* Ducke. **Revista Árvore**, v. 28, p. 157-165, 2004.

DRUMOND, M. A.; RIBASKI, J. **Leucena (*Leucaena leucocephala*): leguminosa de uso múltiplo para o semiárido brasileiro**. Colombo: Embrapa Florestas; Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010.

FARIA, S. M.; MACHADO, R. L.; UCHÔAS, E. S. **Dependência de fungos micorrízicos arbusculares na seleção de estirpes de rizóbio para pau jacaré (*Piptadenia gonoacantha* (Mart.) Macbr), em substrato autoclavado**. Seropédica: Embrapa, 2005.

FERNANDES, M. F.; FERNANDES, R. P. M.; HUNGRIA, M. Seleção de rizóbios nativos para guandi, caupi e feijão-de-porco nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38:835-842. 2003.

FERNANDES JÚNIOR, P. I.; REIS, V. M. **Algumas limitações à fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2008.

FORMENTINI, E. A. **Cartilha sobre adubação verde e compostagem**. Vitória: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, 2008.

FRANCO, A. A., SOUTO, S. M. ***Leucaena leucocephala*: uma leguminosa com múltiplas utilidades para os trópicos**. Seropédica: Embrapa-CNPAB, 1986.

MENDES, M. M. C.; SILVA, T. J. S.; MARQUES, J. S.; SOUSA, A. R.; FIGUEIREDO, M. V. B.; ALBUQUERQUE, S. F. Altura e diâmetro do colo de *Gliricidia sepium* inoculada com *Rhizobium* sp. e fungos micorrízicos arbusculares em Neossolo Litólico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 26., 2011, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2011. Resumo 160-1.

REIS, J. B. C. **Composição químico-bromatológica de leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.) e pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart.) em três alturas de corte**. 2001. 34 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2001.

SILVA, E. F. L.; MIRANDA, J. M. S.; ARAÚJO, A. S. F.; CARVALHO, E. M. S.; NUNES, L.A.P.L. Nodulação natural de leguminosas em solos de cerrado do estado do Piauí. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, p. 274-277, 2009.

STÜRMER, S. L.; CARDOSO, E. J. B. N.; SOUZA, F. A.; KASUYA, M. C. M. “Além das raízes”: o papel dos fungos micorrízicos. **Boletim Informativo da SBCS**, p. 30-32, jan./abr. 2009.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of the root-nodule bacteria**. London: International Biological Programme, 1970.